Aus der Medizinischen Poliklinik Breslau.
(Leiter: Prof. Dr. Bittorf)

Über die Ursachen der Gerinnungsunfähigkeit des Menstrualblutes.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Medizin und Chirurgie der Hohen Medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Apostolos Pyrjalis

Breslau 1929

»Quader« Druckerei und Verlagsanstalt GmbH., Breslau I
Herrenstraße Nr. 19

Gedruckt
mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Breslau.

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. von Falkenhausen,
2. Berichterstatter: Professor Dr. Bittorf.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Von Alters her ist die Tatsache bekannt, daß das während der weiblichen Periode von der Uterusschleimhaut ausgeschiedene Blut entweder völlig ungerinnbar bleibt, oder stark verzögerte bzw. inkomplette Gerinnungsunfähigkeit aufweist.

Die Ursachen dieser auffallenden Erscheinung sind bereits vielfach untersucht worden.

A priori kommen zwei Möglichkeiten in Frage: entweder spielt das Fehlen oder die Verminderung einer der zur Gerinnung erforderlichen Substanzen im Blute die entscheidende Rolle, oder eine Vermehrung der normalen Hemmungskörper bzw. das Auftreten von neuen solchen.

Der normale Gerinnungsvorgang stellt sich nach der heutigen Auffassung so dar, daß die Thrombokinase (Zytozym Bordet) [3]) das im Plasma praeformierte Thrombogen (Proserozym Bordet) unter Mitwirkung von Kalksalzen zu Thrombin (Serozym Bordet) aktiviert, welches seinerseits die Umwandlung des löslichen Fibrinogens in das unlösliche Fibrin verursacht.

Das Fehlen oder die Verminderung jeder dieser Komponenten könnte theoretisch die Ursache einer verzögerten bzw. aufgehobenen Blutgerinnung sein. — *Frankl* [12]), *Halban* und *Aschner* nahmen an, daß bei der Menstruation die fibrinbildenden Fermente des Blutes sowie das Fibrinogen selbst durch das Auftreten von tryptischen Fermenten, die sie in der Sekretionsphase nachgewiesen haben, zerstört werden und sehen in dieser Tatsache die Ursache der Gerinnungshemmung.

Von anderer Seite jedoch wird das Auftreten von Hemmungskörpern als Ursache angenommen.

Dienst[4]) fand größere Mengen von Antithromoin im Menstrualblut. *Schickele*[30]) hat ein von Ovarium dauernd sezerniertes Antithrombin angenommen, das in der praemenstruellen Schleimhaut aufgespeichert ist.

Über die Art der nach diesen Autoren beim Menstrualblut wirksamen Hemmungskörper hat *Hermstein*[18]) beachtenswerte Untersuchungen angestellt: Er fand:

1. daß die Lipoide des Menstrualblutes gesunder geschlechtsreifer Frauen erheblich vermehrt sind gegenüber den Lipoiden des Kreislaufblutes im Intermenstrum;

2. daß auch der Lipoidgehalt des Kreislaufblutes während des Menstrum eine deutliche Vermehrung zeigt;

3. daß die Vermehrung alle Lipoidkomponenten (Cholesterin, Fettsäuren und Phosphatide) gleichmäßig betrifft. Das Verhältnis Cholesterin zu Fettsäuren beträgt im Kreislaufblut des Intermenstrums und dem des Menstrums 0,7 und verschiebt sich im Periodenblut auf 0,6. Der Quotient Phosphatide zu Cholesterin, welcher im Kreislaufblute während des Intermenstrums und Menstrums 1,2 beträgt, erfährt im Periodenblut eine Veränderung auf 1,5.

Ferner hat er festgestellt, daß das Plasma des Periodenblutes Substanzen enthält, welche imstande sind, auch die Gerinnung normalen Kreislaufblutes zu verzögern. Es handelt sich dabei um petrolätherlösliche Körper. Durch Extraktion des Periodenplasmas mit Petroläther wird es so beeinflußt, daß es seine gerinnungshemmenden Eigenschaften verliert, so daß Zusätze zu gewöhnlichem Kreislaufblut ohne Wirkung auf dessen Gerinnungszeit bleiben. Er zieht daraus den Schluß, daß in dem Petrolätherextrakt gerinnungshemmende Substanzen anwesend sein müssen, bei deren Zusatz zu lipoidarm gemachten Periodenplasma wieder eine Gerinnungsverzögerung des Kreislaufblutes in Erscheinung tritt, die aber gegenüber der Wirkung der unbehandelten Periodenplasmas an Intensität zurückbleibt.

Eine neue Betrachtungsweise des Gerinnungsvorganges wurde durch die neuen Untersuchungen von *Falkenhausen* und *Fuchs* eingeleitet: Sie fanden, daß das Blut eines lebenden Meerschweinchens bei Ablenkung seines Komplementgehaltes vollständig gerinnungsunfähig wurde. Die Ablenkung des Komplements wurde dadurch in dem lebenden Organismus bewirkt, daß ein hämolytisches System in genügender Menge intravenös injiziert wurde. Das zur Bestimmung

der Gerinnungszeit benötigte Blut wurde den Tieren durch Herzpunktion entnommen. Das entnommene Blut wurde einfach in Uhrschälchen aus der Spritze entleert und durch sanftes Neigen des Schälchens die Gerinnung kontrolliert.

Eins der Protokolle von *Falkenhausen* und *Fuchs* gebe ich nachstehend wieder.

Entnahmezeit	Blutgerinnungszeit	
	Beginn	Vollständig
Vor Injektion	2^{30}	5^{00}
Nach Injektion		
5 Minuten	5^{00}	7^{00}
10 „	6^{00}	10^{10}
30 „	18^{00}	22^{00}
60 „	ungerinnbar	
13 Stunden	12^{00}	15^{00}
20 „	2^{00}	5^{00}

Aus demselben ergibt sich, daß entsprechend dem Absinken des Komplements die Gerinnungszeit immer länger wird, bis bei völligem Verschwinden absolute Ungerinnbarkeit eintritt. Bei beginnender Neubildung vom Komplement kehrt die Gerinnungszeit dann allmählich wieder zum Normalwerte zurück.

Hieraus zogen die Autoren den Schluß, daß das Komplement auf den Gerinnungsvorgang irgend einen Einfluß ausüben mußte, der ihnen auch bereits aus zahlreichen zusammenhanglosen Literaturangaben hervorzugehen schien.

Klopstock[20]) erwähnt z. B., daß die Hinfälligkeit der Komplementwirkung des Serums offenbar durch den Gerinnungsprozeß bedingt sei und umgekehrt bleibt in steril aufbewahrtem Citraplasma das Komplement 4—8 Wochen wirksam: Bei phosphorvergifteten Hunden, bei denen die Blutgerinnung verzögert war, fanden *Ehrlich*[1]) und *Morgenroth* einen Komplementssturz, der von *Bergmann*[2]) und *Savini* auf die Bildung komplementbildender Antikörper zurückgeführt wird. *Dick*[5]) machte ähnliche Beobachtungen bei der Chloroformvergiftung. *Friedberger* und *Seelig* fanden am entleberten Frosch, *Nolf*[26]) und *Müller*[25]) am entleberten Kaninchen eine Verminderung des Komplements bzw.

einen Schwund. *Rosenthal*[28]), *Melchior* und *Licht* haben diese Versuche nachgeprüft: Sie fanden auch ein starkes Abfallen des Komplementsspiegels im Blute wie auch gleichzeitig eine starke Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes. Die Autoren erklären die Verzögerung der Blutgerinnung hauptsächlich durch den Fibrinogenmangel nach der Leberexstirpation. Außerdem fanden sie aber auch ein Absinken beim Fibrinferment des Blutes. Es ist ferner bekannt eine Gerinnungsverzögerung des Blutes bei Ikteruskranken (Cholämie). Beim experimentellen Ikterus (Phosphorvergiftung) fanden *v. Falkenhausen*[9]) und *Sauer* gleichfalls Gerinnungsverzögerung und Komplementverarmung. Nach *G. Bayer*[1]) wird bei einer Kuppelung gallensaure Salze an Eiweißkörper Komplement gebunden. Andererseits wurde festgestellt *(Morawitz*[22]), *Polpielski)*[27]), daß die Injektion von gallensauren Salzen gerinnungshemmend wirkt. Bei anderen gerinnungshemmenden Agentien werden die eigentlich wirksamen Antikörper erst im Organismus gebildet, so z. B. durch Injektion von Wittepepton, Kaolin, Aalblut. Die Folge davon ist eine Hemmung oder Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit mit antikomplementärer Wirkung. Der wirksame Antikörper entsteht dabei in der Leber: Nach Ausschaltung derselben bleibt die Wirkung aus (*Hedon*[17]) und *Delezenne*).

Den deutlichsten Hinweis auf eine Beziehung des Komplements zur Blutgerinnung finden wir im anaphylaktischen Schock. *Kraus*[21]) und *Biedl* bemerkten zuerst, daß bei diesem eine verzögerte Blutgerinnung auftritt und nahmen als Ursache den Eintritt einer gerinnungshemmenden Substanz aus der Leber an. *Sirenski*[29]) fand eine Verminderung sowohl von Fibrinferment als auch von Fibrinogen als Ursache der Gerinnungsverzögerung. *Friedberger*[14]) und *Hartoch* wiesen jedoch nach, daß im anaphylaktischen Schock eine plötzliche starke Komplementverarmung eintritt: an eine direkte Beziehung zur Blutgerinnungsverzögerung wurde jedoch von ihnen nicht gedacht. Daß das Komplement eine entscheidende Rolle bei dem anaphylaktischen Schock spielt, ist zwar noch nicht ganz unumstritten, *Löffler*[22]) fand, daß der Schock ausbleibt, wenn man einem vorbehandelten Meerschweinchen vor der Reinjektion ein das Komplement an sich reißendes hämolytisches System injiziert. Endlich sei erwähnt die Meinung von *Morawitz*,[24]) der dem Thrombogen einen komplementähnlichen Charakter zuschreibt, es ist thermolabil.

Zur näheren Klärung der Rolle, die das Komplement bei dem Gerinnungsvorgang spielt, unternahm *v. Falkenhausen* [10]) folgenden Versuch. Er machte Oxalatplasma nach *Bordet* und *Delange* mittels Trikalziumphosphat proserozymfrei und rekalzifizierte das Plasma alsdann: Bei Zusatz von Komplementmittelstück gewann dieses Plasma seine Gerinnungsfähigkeit wieder; bei Zusatz vom Komplementendstück jedoch nicht: Diese Ergebnisse sprechen für eine Identität von Proserozym und Komplementmittelstück. In weiterem Verfolg dieser Arbeiten haben *Fuchs* [16]) und *Hartmann* gefunden, daß die schon im normalen Blut vorhandenen bei gewissen Erkrankungen z. B. Hämophilie vermehrten Antithrombine *(Frank* [11]) und *Hartmann)* identisch mit Antikomplemente sind.

Nachdem nun, wie oben erwähnt, *Dienst* und *Schickele* eine Antithrombinvermehrung im Menstrualblut nachgewiesen haben, lag die Annahme nahe, daß es sich auch hier um komplementbindende Substanzen handelte, die hier auch die thrombogenen Eigenschaften des Blutes beseitigen und dadurch die Gerinnungsverzögerung hervorrufen.

Auch die wirksamen Substanzen im Kobragift, von dem bekannt ist, daß es dem Blut die Gerinnungsfähigkeit raubt, sowie das Hirudin stellen ganz offenbar Antithrombine bzw. Antikomplemente dar, die durch Bindung des Komplements die Gerinnung verhindern. Dafür sprach schon der Befund von *Gratia,* [15]) der fand, daß bei einer Mischung von Hirudin und Thrombin, die nach tagelangem Stehen keine Hirudinwirkung mehr zeigte, die letztere nach Erhitzen auf 56°, wobei das gebundene Komplement zerstört wird, wieder auftrat. Von *Fuchs* und *Hartmann* sind diese Verhältnisse in noch unveröffentlichten Arbeiten geklärt worden.

Auf Veranlassung von Priv.-Doz. *v. Falkenhausen* unternahm ich es, Menstrualblut auf seinen Komplementgehalt zu untersuchen.

Was die Gewinnung des Menstrualblutes anbetrifft, seien folgende Bemerkungen vorausgesetzt: Das Menstrualblut wird nach dem Vorgehen von *Driesen* [6]) direkt am Orificium uteri externum mittels einer Kafkakappe gewonnen, um jede Berührung mit dem Scheideninhalt und Exkrete der Schweiß-Talg und Scheideneingangsdrüsen zu vermeiden. Denn es liegt die Annahme nahe, daß das aus dem Uterus in die Vagina hineinfließende Blut durch die chemischen Wirkungen des

Vaginalinhaltes bei längerem Aufenthalt in der Vagina nicht unverändert bleibt.

Stickel [31]) und *Zondek* beobachteten, wie der Vaginalinhalt auf dem Zellgehalt des Menstrualblutes wirkt: Die untenstehende Tabelle zeigt den Unterschied.

	Aus der Scheide ausgeflossen	Aus dem Uterus entnommen nicht geschüttelt	Aus dem Uterus entnommen geschüttelt
Erythrozyten	2,800.000	3,100.000	3,700.000
Leukozyten	2.040	2.600	2.800
Hämoglobin	56 %	65 %	69 %

Ein anderes Verfahren zur Gewinnung des Menstrualblutes ist nach *Stickel* und *Zondeck* durch Dilation der Cervix das ausfließende Menstrualblut zu gewinnen. Durch eine in das Cavum uteri, d. h. über das Orificium Uteri internum eingeführte Glascapillare versuchten die genannten Autoren möglichst unvermischtes Menstrualblut zu gewinnen ohne Berührung mit dem Cervico-Vaginalinhalt. Nach den Beobachtungen von *Hermstein* kommt es jedoch bei diesem Verfahren oft zu Verstopfung der Capillare durch Deziduafetzen und Blutklümpchen. *Hermstein* [19]) benützte ein dickeres Glasrohr von gleichmäßigem Kaliber mit einer Lichtung von ca. 7,5 mm, dessen Inhalt durch einen angesetzten Gummischlauch in ein Reagenzglas fortgeleitet wurde. Aber auch diese Technik erwies sich nicht als günstig. Durch die Wehentätigkeit des reizbaren Uterus ist das Röhrchen in die Scheide ausgestoßen worden. Da jedoch auch die Beteiligung des Collums und Cervix an den menstruellen Vorgängen festgestellt wurde, kann man sich, ohne Fehler zu begehen, mit der Gewinnung des Menstrualblutes aus dem Orificium Uteri externum nach dem Verfahren von *Driesen* mit einer Kafkakappe begnügen.

Ich habe diese Methode benützt und stieß damit auf keine großen Schwierigkeiten. Nach *Hermsteins* Vorschlag wählte ich die Kappe (Universal-Occlusiv-Pessar-Ramses) größer als die betreffende Portio, sodaß diese tief in die Kappe eintauchen konnte. Auf diese Weise vermeidet man infolge des größeren Raumes die evtl. durch Stauung entstehenden wehenartigen Schmerzen. Nach korrekter Applikation der

Kappe mußte die Frau 5 Stunden liegen bleiben. Auf diese Weise konnte ich besonders bei vorsichtiger Herausnahme der Kappe 5—8 ccm Menstrualblut in den ersten zwei Tagen der Periode beginnen. Nach dem zweiten Tage wurde die gewonnene Menge geringer (3—5 ccm). Nach der Entfernung der Kappe wurde der Inhalt in ein steriles Reagenzröhrchen übertragen und durch langes Zentrifugieren das Serum gewonnen.

Die Versuche wurden folgendermaßen angestellt:

1. Das Material wurde von 15 geschlechtsreifen Frauen gewonnen von 19—28 J., deren Genitale objektiv gesund war.

2. Als hämolytisches System benützte ich einen Hammelblutambozeptor vom Kaninchen (Titer 1 : 300), welcher $^3/_4$ Std. im Brutschrank 39 ^{0} C. mit einer Aufschwemmung gewaschenen Hammelerythrozyten sensibilisiert wurde.

3. Von je 1 ccm Serum des Menstrualblutes wurde mit physiologischer Na. Cl.-Lösung eine Verdünnungsreihe angesetzt, die aus den angeführten Protokollen ersichtlich ist.

4. Von obigem erwähnten sensibilisiertem Ambozeptor wurde zu jedem Glas 2 ccm zugesetzt. Nach guter Durchmischung wurden die Reagenzgläser im Brutschrank 4 Std. gelassen.

Gleichzeitig wurde vom peripheren Blut der Frauen Serum gewonnen und auf dieselbe Weise mit dem Ambozeptor versetzt.

Von den gleichartigen Protokollen seien nachstehend vier wiedergegeben.

Versuch 1.

Frau von 19 J.: Menses alle 4 Wochen. Dauer 4—6 Tg. Menstrualblut des *ersten* Tages.

Serum	Hämolyse nach 2 Stunden	
	bei Menstrualblut	bei peripherem Blut
0,5	0	komplette
0,25	0	kpl.
0,125	0	kpl.
0,0625	0	kpl.

Mit physiol. Na Cl.-Lösung auf 1 ccm ergänzt + 2 ccm Ha AZ 39 ^{0} C.

Versuch 2.

Von oben erwähnter Frau.

Menstrualblut des *fünften* Tages.

Serum	Hämolyse nach 2 Stunden	
	bei Menstrualblut	bei peripherem Blut
0,5	Spur	kpl.
0,25	0	kpl.
0,125	0	kpl.
0,0625	0	kpl.

Mit physiol. NaCl.-Lösung auf 1 ccm ergänzt + 2 ccm Ha AZ 39 ° C.

Versuch 3.

Frau, 24 J., Menses regelmäßig, Dauer 3—4 Tage.

Menstrualblut des *zweiten* Tages.

Serum	Hämolyse nach 2 Stunden	
	bei Menstrualblut	bei peripherem Blut
0,5	0	kpl.
0,25	0	kpl.
0,125	0	kpl.
0,0625	0	kpl.

Mit physiol. NaCl.-Lösung auf 1 ccm ergänzt + 2 ccm Ha AZ 39 ° C.

Versuch 4.

Frau, 28 J., Menses regelmäßig, Dauer 3—4 Tage. Menstrualblut des *ersten* Tages.

Serum	Hämolyse nach 2 Stunden	
	bei Menstrualblut	bei peripherem Blut
0,5	0	kpl.
0,25	0	kpl.
0,125	0	kpl.
0,0625	0	kpl.

Mit physiol. NaCl.-Lösung auf 1 ccm ergänzt + 2 ccm Ha AZ 39° C.

Von den 15 Fällen blieb zehn Mal das Blut absolut ungerinnbar, bei den 5 übrigen erfolgte erst nach 36 Stunden teilweise Gerinnung. In diesen Fällen, bei denen es sich stets um die letzten Tage der Periodenblutung handelte, war stets, wie bei Versuch 2 eine geringe Spur Komplement nachweisbar, bei den übrigen überhaupt keins.

Aus diesen Befunden geht hervor, daß auch beim Menstrualblut der Parallelismus zwischen Komplementtiter und Gerinnbarkeit besteht; die nach *Dienst, Schickele* u. a. von der Uterus-mucosa gespeicherten r. aus Periodenblut abgegebenen Antithrombine sind auch hier gleichzeitig Antikomplemente, sodaß schon im Beginn der Menstruation Komplement nur höchstens in Spuren, am 2. Tage überhaupt keins mehr nachweisbar ist. Die Bindung mit dem Komplement scheint hier besonders fest zu sein, da die Ungerinnbarkeit auch bei tagelangem Stehen unverändert bleibt. Meine Befunde bilden also eine Bestätigung und Ergänzung der Arbeiten von *Falkenhausen* und *Fuchs*. Dabei lasse ich es zunächst dahingestellt, ob die Komplementbindung durch Antithrombin den einzigen Grund der Ungerinnbarkeit des Menstrualblutes darstellt oder ob daneben auch noch andere unterstützende Momente z. B. im Sinne der Hinweise von *Hermstein* eine Rolle spielen.

Herrn Privatdozenten Dr. *v. Falkenhausen* spreche ich meinen aufrichtigen Dank für die Anregungen zu dieser Arbeit aus.

Literaturverzeichnis.

1. *G. Bayer,* Archiv. f. exper. Pathol. 13.
2. *Bergmann* und *Savine,* Zeitschr. f. exper. Pathol. 4.
3. *Bordet,* Anm. de l'inst. Pasteur. Tom. 34, p. 561, 1920.
4. *Dienst,* Münch. Med. Wochenschr. 1912. Nr. 51. Lehrb. d. Gynäkol. Schröder.
5. *Dick,* Infekt. Diss. 12. 111.
6. *Driesen,* Zentralbl. f. Gynäkol. 1914. S. 618.
7. *Ehrlich* und *Morgenroth,* Berl. Klin. Wochenschr. 1900.
8. *Falkenhausen* und *Fuchs,* Biochem. Ztschr. Sonderabdr. aus 184. Bd., Heft 1/3. 1927, und Verhandlungen d. Chirurg. f. inn. Medizin, Wiesbaden 1927.
9. *Falkenhausen* und *Sauer,* Zeitschr. f. d. gesamte experim. Mediz. 1927. Bd. LVII, Heft 3—4.
10. *Falkenhausen,* Biochem. Zeitschr. 1927, Bd. 185, Heft 4/1.
11. *Frank* und *Hartmann,* Klin. Wochenschr. 1927.
12. *Frank, Halbau* und *Aschner,* Gynäkol. Rundschau. 1911, H. 17. Lehrbuch der Gynäkol. von Schröder, S. 55.
13. *Friedberger* und *Seelig,* Zentralbl. f. Bakteriol. 76.
14. *Friedberger* und *Hartoch,* Zeitschr. f. Immunf. 3.
15. *Gratia,* C. r. 83.
16. *Fuchs* und *Hartmann,* erscheint demnächst in der Biochem. Wochenschr.
17. *Hedon* und *Delezenne,* C. r. soc. biolog. 48, 1869, 633.
18. *Hermstein,* Über die Lipoide des Menstrualblutes. Sonderdr. a. d. Arch. f. Gynäkol. Bd. 130.
19. *Hermstein,*
20. *Klopstock,* Zentralbl. f. Bakter. Orig. I, 98.
21. *Kraus* und *Biedl,* Handb. der Immunf. Jena 1909.

22. *Löffler,* Zeitschr. f. Immunf. 14.
23. *Morawitz* und *Bierig,* Arch. f. exper. Pathol. 56.
24. *Morawitz,* Lehrbuch der inneren Medizin v. Stehelin-Bergmann.
25. *Müller,* Zentralbl. f. Bakter. 57.
26. *Nolf,* Bull. de l'academ. des sciences. 1908.
27. *Popielski,* Zeitschr. f. Immunforsch. 1913.
28. *Rosenthal,* Melchior und Licht, Arch. f. exper. Pathol. 115.
29. *Sirensky,* Zeitschr. f. Immunforsch. 12.
30. *Schickele,* Lehrbuch der Gynäkol. Schröder, S. 55.
31. *Zondeck* und *Stickel,* Arch. f. Gynäkol. 83. Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. 1923, Nr. 85.

Lebenslauf.

Ich, *Apostolos Pyrjalis*, wurde am 27. Januar 1893 in Ano Volos, Griechenland, als Sohn des Arztes Aggelos Pyrjalis und seiner Ehefrau Athenas, geboren. Meine Schulausbildung erhielt ich am Gymnasium Volos, an dem ich Sommer 1910 meine Reifeprüfung bestand. Weitere Ausbildung erhielt ich an der Akademisch-militärischen Schule in Athen. 1915 wurde ich zum Leutnant ernannt und 1919 bin ich aus politischen Gründen aus militärischen Diensten ausgeschieden. Von 1920—1921 studierte ich Medizin. Hierauf wurde ich in meinen früheren Beruf zurückgerufen. 1924 trat ich als Hauptmann wiederum aus militärischen Diensten aus. Alsdann studierte ich weiter Medizin; mein ärztliches Vorexamen sowie das Staatsexamen bestand ich an der Breslauer Universität. Ich bin griechischer Staatsangehöriger.